AT03T

AT03T　　2007年10月作成（第1版）
研究用試薬

化学発光酵素免疫測定法試薬

アポ蛋白B-48測定キット

（ApoB−48　CLEIA　Fujirebio）

本試薬は研究用試薬ですので、診断目的に使用することはできません。本試薬使用に際しては、測定システムの取扱説明書を参照してご使用ください。

はじめに

ヒトアポリポ蛋白B－４８（アポ蛋白B－４８）は小腸から分泌されるアポリポ蛋白Bの一種で、カイロミクロンおよびカイロミクロンレムナント中に存在しています。近年、カイロミクロンレムナント代謝異常と冠動脈疾患[1)]、食後高脂血症[2~3)]の関連性が数多く報告され、血中アポ蛋白B－４８がレムナント代謝異常の指標として注目されています。
アポ蛋白B－４８測定キットは、外因性リポ蛋白に存在するアポ蛋白B－４８を測定する試薬で、一次抗体としてアポ蛋白B－４８のC末端領域を認識する抗アポ蛋白B－４８抗体を使用し、二次抗体として抗アポ蛋白B抗体を使用することにより、血清または血漿中のアポ蛋白B－４８を精密に測定することができます。
本試薬は、化学発光酵素免疫測定法（CLEIA；chemiluminescent enzyme immunoassay）[4)]に基づくアポ蛋白B－４８測定用の試薬です。使用にあたっては、弊社で販売している全自動化学発光酵素免疫測定システムが必要です。別売の標準アポ蛋白B－４８セットと組み合わせて使用してください。

特　徴

固相にフェライト粒子を用いており、B／F分離が容易で迅速測定が可能です。

原　理

本試薬は、２ステップサンドイッチ法を原理とする化学発光酵素免疫測定法（CLEIA）によるアポ蛋白B－４８測定用試薬です。
試料を界面活性剤を主成分とするアポ蛋白B－４８用処理液で処理し、カイロミクロンおよびカイロミクロンレムナント中のアポ蛋白B－４８を露出させます。
次にこの処理済試料を、抗アポ蛋白B－４８モノクローナル抗体（マウス）結合粒子（固相；第一抗体）に加え反応させ、洗浄後アルカリホスファターゼ標識抗アポ蛋白Bモノクローナル抗体（マウス）（第2抗体）を加えて反応させますと、試料中のアポ蛋白B－４８を介した3者のサンドイッチ複合体が形成されます。未反応のアルカリホスファターゼ標識抗体を磁気分離器によりB／F分離して除去した後に、化学発光基質（AMPPD）[注1)]を加えて酵素反応を行います。固相に結合した試料中のアポ蛋白B－４８量は、AMPPDの分解に伴う発光量に反映されますので、これをルミノメーターで測定することによりアポ蛋白B－４８の濃度を求めることができます。

注1）AMPPD：3-(2'-spiroadamantane)-4-methoxy-4-(3''-phosphoryloxy)phenyl-1,2-dioxetane disodium salt / 3-(2'-スピロアダマンタン)-4-メトキシ-4-(3''-ホスホリルオキシ)フェニル-1,2-ジオキセタン・2ナトリウム塩

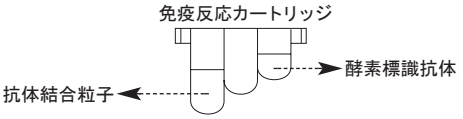
試薬構成

◇　アポ蛋白B－４８測定用カートリッジ（４２テスト×２）

1. 抗体結合粒子[注2)](使用時液状、２５０μL／カートリッジ)
   フェライト粒子に抗アポ蛋白B－４８モノクローナル抗体（マウス）を固相化したもの。

注2）15℃以下の温度ではゲル化しています。

2. 酵素標識抗体（液状、３５０μL／カートリッジ）
   抗アポ蛋白Bモノクローナル抗体（マウス）をアルカリホスファターゼ（ALP）標識したもの。



◇　アポ蛋白B－４８用処理液（液状、２５mL×２）

操作上の留意事項

1. サンプリングチップ、サンプルカップは、使用する測定システム指定のものを使用してください。
2. サンプリングチップは常に新しいものを使用してください。
3. 試料は不活性化（非働化）しないで使用してください。
4. 試料は可能な限り新鮮な血清または血漿を用い、保存する場合は−２０℃以下で凍結保存してください。
5. 検体に抗凝固剤（ＥＤＴＡ−二カリウム、クエン酸ナトリウム、ヘパリンナトリウム）を添加して試験した結果、それぞれ１０ｍｇ／ｍＬ、３８ｍｇ／ｍＬ、１００Ｕ／ｍＬまで測定値に影響は認められませんでしたが、液体の抗凝固剤を用いる場合は、検体の希釈率にご注意ください。
6. 試料の凍結融解の繰り返しは避けてください。
7. 試料に赤血球・その他の有形成分、沈殿物が含まれている場合はサンプリングの際に吸引しないよう注意してください。
8. 試料および標準アポ蛋白B－４８溶液（別売の標準アポ蛋白B－４８（凍結乾燥）にアポ蛋白B－４８用溶解用液を加えて復元した標準溶液）は蒸発による濃縮を考慮し、装置セット後の経過時間に注意してください。
9. 正確な測定を行うために、用いる精製水は常に新しいものを使用してください。
10. 基質液はアルカリ性溶液（ｐＨ１０）です。測定システムにセット後は、なるべく空気に触れないよう、基質液交換時まで取りはずしは避けてください。
11. 基質液の操作取扱いには、十分注意してください。基質液がアルカリホスファターゼ（ＡＬＰ）に汚染されますとご使用になれません。手指が直接基質液に触れた場合は廃棄してください。
12. 標準アポ蛋白B－４８溶液は調製後速やかに使用してください。残った標準アポ蛋白B－４８溶液は２～１０℃で保存し、調製後１２時間以内に使用してください。調製後１２時間以降に使用する場合は凍結して保存してください。融解後の再凍結はできません。

使用方法

Ⅰ．使用装置および使用器具

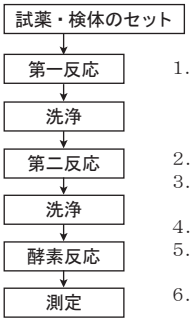
（ａ）全自動化学発光酵素免疫測定システム
（ｂ）マイクロピペット
（ｃ）サンプリングチップ
（ｄ）サンプルカップ
（ｅ）プラスティック容器

Ⅱ．操作方法

＜操作手順＞

1. 全自動化学発光酵素免疫測定システムの取扱説明書を参照し、標準アポ蛋白B－４８溶液および試料の測定依頼内容を入力します。
2. 標準アポ蛋白B－４８溶液と試料の処理を以下の手順でおこないます。まずプラスティック容器にアポ蛋白B－４８用処理液３８０μＬを分取し、次いで標準アポ蛋白B－４８溶液を２０μＬ添加します。混合した溶液はピペッティング操作によりまたはミキサーを用いてよく混和し、処理済標準アポ蛋白B－４８溶液とします。試料についても、同様の順序で処理済試料を調製します。処理後は速やかに測定に用いてください。
3. 処理済標準アポ蛋白B－４８溶液および処理済試料をサンプルカップに分注し、所定の位置にセットします（使用する測定システムのデッドボリュームを考慮してください）。
4. スタートキーを押し、測定を開始します。
5. 反応プロトコールに示す操作が装置内で自動的に進行し、測定結果がプリントアウトされます。

＜反応プロトコール；２ステップモード＞



1. 処理済標準アポ蛋白Ｂ－４８溶液または処理済試料１０μＬを免疫反応カートリッジ反応槽（抗体結合粒子）に分注し、撹拌後、３７℃で１０分間インキュベーションします（第一反応）。
2. Ｂ／Ｆ分離・洗浄を行います。
3. 酵素標識抗体２５０μＬを反応槽に分注し、撹拌後、３７℃で１０分間インキュベーションします（第二反応）。
4. Ｂ／Ｆ分離・洗浄を行います。
5. 基質液２００μＬを反応槽に分注し、撹拌後、３７℃で５分間インキュベーションします（酵素反応）。
6. 発光量を測定し、結果を算出します。

Ⅲ．アポ蛋白Ｂ-４８濃度の算出法

1. 各標準アポ蛋白Ｂ－４８溶液の発光量より検量線を作成し、試料中のアポ蛋白Ｂ－４８濃度を算出します。
2. 試料中のアポ蛋白Ｂ－４８濃度が４０μｇ／ｍＬを超える場合は、試料を別売のルミパルス検体希釈液で希釈して再測定してください。

測定範囲

１．測定範囲

本試薬の測定範囲は、０．２～４０μｇ／ｍＬです。

２．検出限界

標準アポ蛋白Ｂ－４８溶液（濃度1）と希釈したアポ蛋白Ｂ－４８溶液を所定の操作で２０回繰り返し測定し、標準アポ蛋白Ｂ－４８溶液（濃度1）の平均値＋３ＳＤと、希釈したアポ蛋白Ｂ－４８溶液の平均値－３ＳＤが区別できる最小濃度を検出限界として求めたとき、値は０．０２μｇ／ｍＬとなりました。

妨害物質

検体にビリルビンF、ビリルビンC、ヘモグロビンを添加して試験した結果、それぞれ１９．４ｍｇ／ｍＬ、２０．９ｍｇ／ｍＬ、５２３ｍｇ／ｍＬまで測定値に影響は認められませんでした。

使用上又は取扱い上の注意

1. 本試薬使用にあたっては、弊社にて販売している全自動化学発光酵素免疫測定システムが必要です。
2. 本試薬の保存条件は厳守してください。
   本試薬の抗体結合粒子、酵素標識抗体およびアポ蛋白Ｂ-４８用処理液には保存剤として０．１%のアジ化ナトリウムが含まれています。廃棄する際には爆発性の金属アジドが生成されないよう多量の水で流してください。また別売の標準アポ蛋白Ｂ-４８（凍結乾燥）には保存剤として２．２%（w／w）のアジ化ナトリウムが含まれています。凍結乾燥品は毒物に該当しますので、廃棄する際にはアジ化ナトリウムの濃度が０．１%以下になるように希釈してください。廃棄する際には爆発性の金属アジドが生成されないように多量の水で流してください。
3. 試料中にはＨＢＶ、ＨＩＶ、ＨＣＶなどが存在する場合がありますので、試料の取扱いには十分注意してください。また、使用した器具（ピペット、試験管等）、廃液、サンプリングチップなどは、次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度１０００ｐｐｍ、1時間以上浸漬）、グルタールアルデヒド（２%、1時間以上浸漬）などによる消毒、オートクレーブ（１２１℃、２０分以上）による滅菌処理を行ってください。
4. 試料中のフィブリンクロットや赤血球等の有形成分の存在、試料間の汚染、非特異反応等の要因により測定値に影響を受ける場合もあります。
5. 基質液はアルカリ性溶液（ｐＨ　10）です。使用に際しては、液が直接皮膚についたり、目に入ったりしないよう注意してください。
6. 試薬が誤って目や口に入った場合は、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば、医師の手当等を受けてください。
7. 試薬および容器等を廃棄する場合は、廃棄物に関する規程に従って、医療廃棄物または産業廃棄物等区別して処理してください。

特 異 性

ヒトアポリポ蛋白Ｂ－１００との反応性は定量限界以下でした。

保　　存

２～１０℃で保存してください。

使用期限

外箱の表示をご参照ください。

包装単位

アポ蛋白Ｂ－４８測定キット　４２テスト×２
（抗体結合粒子および酵素標識抗体、アポ蛋白Ｂ－４８用処理液）

別 売 品

標準アポ蛋白Ｂ－４８セット（アポ蛋白Ｂ－４８測定専用試薬：研究用試薬）

◇　**標準アポ蛋白Ｂ－４８**[注3)]

① 標準アポ蛋白Ｂ－４８　濃度１
② 標準アポ蛋白Ｂ－４８　濃度２
③ 標準アポ蛋白Ｂ－４８　濃度３
④ 標準アポ蛋白Ｂ－４８　濃度４

注3）調製後の標準アポ蛋白Ｂ－４８溶液（濃度1）の濃度は０μｇ／ｍＬです。
調製後の標準アポ蛋白Ｂ－４８溶液（濃度２～４）の濃度は、ラベルに記載してあります。

◇　**アポ蛋白Ｂ－４８用溶解用液**

主要文献

1) Meyer E, et al.: Abnormal postprandial apolipoprotein B-48 and triglyceride responses in normolipidemic women with greater than 70% stenotic coronary artery disease: a case-control study. Atherosclerosis. 124 (2) : 221-35, 1996.
2) Simpson HS, et al.: Postprandial lipemia, fenofibrate and coronary artery disease. Atherosclerosis. 85 (2-3) : 193-202, 1990.
3) Karpe F, et al.: Postprandial lipoproteins and progression of coronary atherosclerosis. Atherosclerosis. 106 (1) : 83-97. 1994.
4) Irena Bronstein, et al.: 1,2-Dioxetanes : Novel Chemiluminescent Enzyme Substrates. Applications to Immunoassays. J. Biolumin. Chemilumin. Vol.4 : 99-111, 1989.

問い合わせ先

富士レビオ株式会社　お客様コールセンター
東京都中央区日本橋浜町2-26-5
TEL：0120-292-832
FAX：03-5695-9234

本製品は、Applied Biosystems.から導入した技術に基づいて製造したものです。

製造・発売元
富士レビオ株式会社
東京都中央区日本橋浜町2-62-5

AT03T